UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

231

O. VERONA

Qualche osservazione sulla fisiologia di "Candida pulcherrima" (Lindner) Wind. in rapporto alla fermentazione vinaria

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME X - (XLVIII DALLA FONDAZIONE)
— 1949 —

2 NOV. 1949

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

231

O. VERONA

Qualche osservazione sulla fisiologia di "Candida pulcherrima" (Lindner) Wind. in rapporto alla fermentazione vinaria

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME X - (XLVIII DALLA FONDAZIONE)
— 1949 —

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

O. VERONA

QUALCHE OSSERVAZIONE SULLA FISIOLOGIA DI " CANDIDA PULCHERRIMA „ (LINDNER) WIND. IN RAPPORTO ALLA FERMENTAZIONE VINARIA

RIASSUNTO - L'A. nota che *Candida pulcherrima* è un lievito che si rinviene assai di frequente nei mosti in fermentazione. In relazione a tale rilievo ha eseguito ricerche dirette a stabilire quale possa essere la sua importanza dal punto di vista tecnologico.

È risultato che *C. p.* presenta una debole attività alcooligena se pure variabile da ceppo a ceppo, attività alcooligena che non aumenta per una maggiore presenza di fosfati nel mezzo, nè qualora lo stesso mezzo venga neutrallzzato o tamponato. Debole è anche la produzione di acidità volatile che si mantiene inferiore a quella prodotta dal lievito ellittico e dal lievito apiculato.

Consociata con altri lieviti *C. p.* dimostra di esercitare, talvolta, un certo stimolo nello svolgimento del processo fermentativo; ma trattasi di azione non rilevante ed incostante.

Fatta qualche eccezione *C. p.* dimostra di ben tollerare la presenza nel mezzo di alcool etilico e di acidi organici almeno nelle quantità normalmente presenti nei fermentati.

In definitiva si tratta di un lievito che sembra non partecipare in modo attivo alla fermentazione vinaria, almeno nella fase violenta del processo.

Ciò non esclude peraltro un suo eventuale intervento nelle fasi successive.

RÉSUMÉ - L'A. remarque que *Candida pulcherrima* est un levure que l'on trouve tres frequemment dans les moûts en fermentation. D'après cette constatation l'auteur a executé des recherches, dans le but d'ètablir quelle peut être son importance au point de vue tecnologique.

Il eu est resulté que *C. p.* presente une faible activité alcoologène variable de souche à souche, activité qui n'augmente pas pour une quantitè plus grande de phosphates dans le milieu, ni lorsque le même milieu est neutralisé ou tamponné.

Faible est aussi la production d'acidité volatile qui se maintient inférieure à celle produite par la levure « ellipsoideus » et par la levure « apiculatus ».

C. p. associée avec d'autres levures démontre parfois d'exercer une certaine stimulation dans le dèveloppement du procédé fermentatif, mais il s'agit d'une action sans relief et inconstante.

Sauf quelques exceptions, *C. p.* démontre de bien tollerer, dans le milieu, la présence d'alcool ethylique et d'acides organiques, au moins dans les quantités qui se trouvent normalement dans les fermentés.

En définitive il s'agit d'un levure qui semble ne pas parteciper, d'une façon active, à la fermentation vinaire, au moins dans le phase violente du procédé.

Cela, n'exclut pourtant son eventuelle intervention dans les phases succesives.

SUMMARY - The A. notices that *Candida pulcherrima* is a yeast found most frequently in musts in fermentation. With regard to such remark the A. has made researches to establish its importance from the technologic point of wiew.

The result is that *C. p.* presents a light alcoholigena activity which, though variable from one originanting groups to the other, does not increase either for a larger presence of phosphates in it, or when it is neutralised or stopped out.

The production of volatile acidity is light too, and inferior to that produced by « ellipsoideus » yeast and by « apiculatus » yeast.

C. p., associated with other yeast, sometimes proves to be a stimulus in the development of the fermentative process, but it is an action neither important nor costant.

Some exception apart, *C. p.* proves to tollerate well the presence of ethyl alcohol and organical acids in it, at least in quantities normally present in wine.

It proves to be a leaven, which seems not to partecipate, in an active sense, to the fermentation of wine, at least in the violent phase of the process.

This, however, doesn't exclude its eventual intervention in the successive phases.

ZUSAMMENFASSUNG - A macht aufmerksam, dap *Candida pulcherrima* ein Hefen ist, welcher man oft in Mostgärung trift.

In Bezug auf diese Beziehung, habe ich direkte Nachforschungen um festzustellen, welche seine Wichtigkeit aus technischem Shempunkt ist, gemacht.

Es hat sich ergeben, dap *C. p.* eine leicht, weun anch weckselbare von Stamm zu Stamm, alcoholigene Tätigkeit vorbringt. Alcoholigene Tätigkeit, welche sic nicht vermehrt, für eine grôpere Gegenwart von Phosphorsäures-Salz un Mittel, auch nicht weun dasselbe Mittel neutralisiert und tamponiert wird. Die Erzeugung von flüchtiges Sauerstoff, welches sich niedriger hält au disenige, die vom elliptischen Hefen und vom Apiculat, ist auch schwach.

Mit andere Iläfer vereinigt, *C. p.* zeigt manchmal einen genipen Aureiz in der Entuicklung von Gärungsprozess zu üben. Es handelt sich aber um eine umbeständige und nicht erhebliche Handlung.

Mit wenige Ausnahmen, *C. p.* zeigt die Gegenwart in der Mitte von ethylenischem Alcool und von organischen Säure, wenigstens im Quantum, der sich in Gährungsstoffe befindet, zu vertragen.

Es handelt sich im Grunde von einem Iläfer, der nicht in einer aktiver Art der Wem - Gährung teil zu nehmen scheint, weningstens in der gewältige Phase vom Prozess.

Eine eventuelle Gegenwart in darauffolgende Phasen ist nicht ausgeschlopen.

Candida pulcherrima (LINDNER) WIND. è un lievito oggi abbastanza ben conosciuto, particolarmente frequente sulle frutta e, quindi, anche sull'uva e, in conseguenza, nei mosti e nei vini (1).

Con particolare riferimento ai mosti d'uva destinati alla vinificazione esso fu già segnalato da PULSELLI (2) e, quindi, da DE' ROSSI (3) nei mosti dell'Umbria; poi da VERONA e LUCHETTI (4) nelle uve delle Marche, infine da CASTELLI (5) nei mosti del Chianti e di altre zone. Quest'ultimo ne rilevò, anzi, la relativa frequenza (nei mosti del Chianti fino al 17,2 % dei campioni esaminati) e, saggiando il comportamento di vari ceppi ebbe modo di notare — fatto comune a tutti i lieviti — differenze più o meno sensibili nei riguardi dell'attività fermentativa con un rendimento in alcool oscillante tra l' 1,84 e il 3,26 in peso. CASTELLI intese anche differenziare una nuova varietà (6) che peraltro non fu successivamente convalidata da DIDDENS e LODDER.

Il rinvenimento relativamente frequente di *Candida pulcherrima*, confermato anche da nostre ricerche inedite sui mosti di zone perichiantigiane e pisane, ci ha suggerito di vedere un poco più a fondo il modo con il quale tale specie si comporta, sia nei riguardi dell'attività fermentativa che di altre proprietà aventi interesse nel processo di vinificazione. La ricerca ci interessava, altresì, in ordine ad alcuni problemi posti in relazione alla eventuale influenza esercitata, sulla fermentazione vinaria, dai lieviti filametosi (7), (8).

---

(1) - Si consulti, al riguardo:
H. A. DIDDENS e J. LODDER - *Die anascosporogenen Hefen* - Amsterdam, 1942.

(2) - M. PULSELLI - *Studio sui fermenti alcoolici dei mosti dell' Umbria* - Nuovi Annali dell'Agricoltura, vol. 7, 1927.

(3) - G. DE' ROSSI - *I lieviti della fermentazione vinaria nella regione umbra* - Rel. al IV Congr. int. d. Vigna e del Vino, Losanna, 1935.

(4) - O. VERONA e G. LUCHETTI - *Ricerche microbiologiche su di alcuni vini ed alcune uve delle Marche*. Boll. Ist. Sup. Agr. di Pisa, vol. XII, 1936.

(5) - T. CASTELLI - *I lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico e zone limitrofe* - Nuovi Ann. dell'Agr., 1939.

— - *Ancora sui lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico* - Id., 1939.

— - *Prime indagini sui lieviti della fermentazione vinaria della Sicilia* - L' Italia Agricola, 1947.

— - *I lieviti della fermentazione vinaria del Piceno* - Ann. Fac. Agr. di Perugia, vol. IV, 1947.

(6) - — - *Considerazioni sulla Torulopsis pulcherrima* - Arch. f. Mikr., vol. 11, 1940.

(7) - O. VERONA e G. FLORENZANO - *Alcune considerazioni sopra i lieviti filamentosi presenti nelle uve e nei vini*. L'Agr. Ital., 1947.

(8) - O. VERONA - *Sopra alcune questioni relative alla fermentazione vinaria* - Atti Acc. Georgofili, 1947.

Le ricerche cui alla presente Nota sono state eseguite con quattro ceppi di *Candida pulcherrima* e precisamente:

1° ceppo: siglato 26-T-13, isolato da mosto di mele.
2° » : siglato 69-T-13, isolato da mosto d'uva della zona empolese e a parte descritto per presentare caratteristiche morfologiche diverse dal tipo (1).
3° » : siglato 65-T-13, isolato da mosto d'uva del pisano.
4° » : siglato Asp. È il ceppo originale di MRAK e MC CLUNG, isolato da uva e descritto dagli AA., sotto il nome di *Asporomyces uvae* (2).

Talvolta, a confronto, avemmo un ceppo di lievito ellittico isolato da mosti locali.

Ecco, in successione, le diverse ricerche eseguite.

1 - RICERCHE SULL'ATTIVITÀ FERMENTATIVA DI C. PULCHERRIMA COLTIVATA IN PUREZZA.

Le presenti ricerche furono dirette a stabilire l'attività fermentativa dei diversi ceppi, in comparazione con un ceppo di lievito ellittico. Come mezzo fermentescibile si fece uso, generalmente, di acqua di lievito zuccherata. Tale mezzo fu preparato come segue: 150 gr. di lievito vennero fatti digerire in un litro d'acqua per 2-3 ore a b. m. e quindi per 10′ a 120° C.; successivamente il liquido fu chiarificato e filtrato a limpidezza. Ad esso venne poi aggiunto saccarosio in ragione del 20 % e acido tartarico in quantità del 4 ‰ riscaldando ad 80-90° C. fino a completa inversione dello zucchero. Il liquido, allora, fu distribuito in ragione di cc. 100 in matracci muniti di bolle ad ac. solforico e, previa sterilizzazione, inoculato con uguali quantità di lievito a parte sviluppato. Giornalmente venne dosata, per differenza di peso, la CO_2 prodottasi e, a termine esperienza, dosato l'alcool e determinato l'acidità volatile.

Risultò quanto in Tab. I.

(1) - O. VERONA e G. FLORENZANO - *Sopra alcuni aspetti morfologici di Candida pulcherrima* - Ann. Fac. Agr. Un. Pisa, vol. VIII, 1947.
(2) - E. M. MRAK e L. S. MC CLUNG - *Journ. Bact.*, vol. 40, p. 395, 1940.

TABELLA I

giorni:	Quantità di CO_2 da 100 cc. di liquido contenente il 20,85 % di zuccheri riduttori; gr.:				
	ceppo 26-T-13	ceppo 69-T-13	ceppo 65-T-15	ceppo Asp.	*Sacch. ellips.*
1	—	—	—	—	0,150
2	0,160	0,120	0,110	0,140	1,600
3	0,345	0,410	0,350	0,390	3,350
4	0,495	0,630	0,455	0,520	4,910
5	0,620	0,890	0,575	0,760	6,200
6	0,710	1,105	0,750	0,950	7,300
7	0,725	1,260	1,025	1,090	8,115
8	0,740	1,370	1,140	1,160	8,620
9	0,755	1,525	1,225	1,240	8,940
10	0,770	1,670	1,280	1,440	9,155
11	0,770	1,790	1,300	1,690	9,240
12		1,900	1,315	1,820	9,295
13		2,060	1,320	2,010	9,298
14		2,100	1,320	2,080	9,302
alcool % in volume	0,8	2,9	1,8	2,6	10,5
ac. volatile ‰ di ac. acet.	0,072	0,112	0,090	0,105	0,65

L'esperienza informa o, meglio, conferma, quanto già era noto e precisamente che qualche differenza di comportamento esiste tra ceppo e ceppo; ma che tutti, comunque, presentano una molto debole attività alcooligena.

Ripetuta altre volte analoga ricerca non si sono avuti risultati molto dissimili conforme appare dalla Tab. II ove, per semplicità, è stato omesso di riportare il valore dall'anidride carbonica sviluppatasi giornalmente.

Per quanto si riferisce all'acidità volatile anch'essa appare assai debole e siccome può essere istruttivo confrontarne i valori con quelli che solitamente si hanno per il lievito ellittico e gli apiculati riportiamo di seguito, tra i tanti, alcuni recenti di TARANTOLA che molto bene si prestano al confronto avendo questi sperimentato non solo in mosto naturale, ma anche, come nelle presenti ricerche, in acqua di lievito zuccherata (1).

(1) - C. TARANTOLA - *Nuovo contributo allo studio dei lieviti apiculati* - Ann. Acc. di Agr. di Torino, vol. 88, 1946.

TABELLA II

Quantità percentuale di alcool (in volume) e ac. volatile calcolata come ac. acetico ‰ dopo 18 giorni a 24° C. in liquidi contenenti il 21,3 % di zuccheri riduttori.

	ceppo 26-T-13		ceppo 69-T-13		ceppo 65-T-13		ceppo *Asp.*	
	alcool % in vol.	ac. volat. ‰	alcool % in vol.	ac. volat. ‰	alcool % in vol.	ac. volat. ‰	alcool % in vol.	ac. volat. ‰
Ric. I	0,8	0,072	2,9	0,112	1,8	0,090	2,6	0,105
» II	1,1	0,060	0,9	0,057	1,3	0,071	0,5	0,056
» III	2,4	0,089	1,9	0,115	2,8	0,110	1,2	0,090
» IV	1,6	0,070	1,0	0,075	0,7	0,040	2,1	0,107

Si osserva che l'acidità volatile prodotta da *C. pulcherrima* è sempre molto inferiore a quella prodotta dal lievito ellittico ed apiculato; e, se si valuta in rapporto all'alcool, non raggiungendosi mai l'unità si scorge che si hanno valori assai più vicini a quelli dell'ellittico che non a quelli dell'apiculato.

TABELLA III

Quantità di alcool e di ac. volatile prodotta da tre diversi ceppi di ellittico e tre di apiculato in mosto e in acqua di lievito zuccherata.

(da TARANTOLA)

		alcool % in vol. in mosto	alcool % in vol. in acq. liev.	ac. volatile ‰ in mosto	ac. volatile ‰ in acq. liev.	ac. volat. per 100 cc. alcool in mosto	ac. volat. per 100 cc. alcool in acq. liev.
lievito apicutato	1	3,25	4,69	0,80	0,74	2,38	1,57
	2	2,65	4,29	0,57	0,55	2,15	1,28
	3	3,89	5,06	0,68	0,72	1,72	1,42
lievito ellittico	1	11,59	11,68	0,51	0,72	0,44	0,61
	2	11,54	11,63	0,45	0,65	0,39	0,55
	3	11,68	11,63	0,50	0,80	0,43	0,67

La constatata debole attività fermentativa di *C. pulcherrima* abbiamo voluto accertare se, per caso, non fosse legata a qualche fenomeno di autoimpedimento conforme quanto ha messo in rilievo ANTONIANI [1] per *Kloec-*

(1) - C. ANTONIANI - *Sul fenomeno di autoimpedimento fermentativo e sulle cause atte a rimuoverlo. Osservazioni su Pseudosacch. apiculatus* - Ann. Micr., vol. III, 1943.
— - *Sul fenomeno ecc. - Osservazioni su Hansenula panis* - Id. vol. III, 1943.

kera apiculata ed un ceppo di *Hansenula*. In questi casi ciò che è stato definito da ANTONIANI come autoimpedimento fermentativo viene rimosso qualora si operi in mezzo neutro o tamponato. In analogia a quelle ricerche si è allora sperimentato con il solito substrato in parte però neutralizzato al tornasole con alcali potassico, in parte aggiungendo, oltre alla potassa, il 6 % di carbonato di calcio. Le prove furono eseguite in doppio limitatamente ai ceppi 69-T-13 e *Asp*. Risultò quanto nella Tabella IV.

TABELLA IV

Quantità di CO_2 (gr.) da 100 cc. di liquido contenente il 20,70 % di zuccheri riduttori.

giorni:	ceppo 69-T-13				ceppo *Asp.*			
	in mezzo neutro per KOH		in mezzo neutro per KOH + 6 % Ca CO_3		in mezzo neutro per KOH		in mezzo neutro per KOH + 6 % Ca CO_3	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1	—	—	—	—	—	—	—	—
2	0,120	0,110	—	—	0,130	0,115	—	—
3	0,340	0,460	0,040	0,050	0,415	0,380	0,030	0,040
4	0,615	0,660	0,120	0,140	0,640	0,610	0,105	0,125
5	0,810	0,900	0,360	0,390	0,905	0,875	0,280	0,300
6	1,080	1,100	0,540	0,690	1,150	1,110	0,420	0,430
7	1,350	1,250	0.710	1,090	1,350	1,280	0,560	0,575
8	1,550	1,385	0,870	1,345	1,550	1,465	0.690	0,705
9	1,780	1,540	1,080	1,620	1,770	1,610	0,830	0,850
10	1,920	1,680	1,240	1,800	1,960	1,800	0,920	0,940
11	2,030	1,800	1,395	1,960	2,070	2,020	1,030	1,055
12	2,120	1,910	1,580	2,110	2,330	2,215	1,120	1,140
13	2,205	2,070	1,740	2,270	2,505	2,430	1,200	1,260
14	2,215	2,190	1,960	2,405	2,510	2,435	1,300	1,275
15	2,220	2,190	2,110	2,510	2,510	2,435	1,410	1,280
alcool % in volume:	2,7	2,7	2,7	2,8	2,8	2,8	1,9	1,7

Evidentemente, in *Candida pulcherrima*, il basso potere alcoligeno non sembra legato a nessun fenomeno di autoimpedimento o per lo meno, se autoimpedimento esiste, esso deve trovarsi legato ad altre cause che non siano quelle date dall'acidità del mezzo.

Attesa la debole attività fermentativa si poteva escludere a priori che un arricchimento del mezzo in fosfati potesse influire sensibilmente sul processo. Tuttavia si volle fare qualche ricerca in questo senso e, sempre limitatamente al ceppo 69-T-13 e *Asp.*, si volle saggiare l'influenza del fosfato biammonico che aggiungemmo al mezzo nelle quantità dello 0,5-1-2 ‰. Procedendo come al solito fu ottenuto quanto figura in Tabella V.

TABELLA V

Quantità di CO_2 (gr.) da 100 cc. di liquido contenente il 21,1 % di zuccheri riduttori.

	ceppo 69-T-13				ceppo *Asp.*			
		fosfato biammonico ‰				fosfato biammonico ‰		
giorni:	controllo	0,5	1,-	2,-	controllo	0,5	1,-	2,-
1	—	—	—	—	—	—		—
2	0,130	0,130	0,135	0,140	0,140	0,140	0,150	0,140
3	0,370	0,375	0,390	0,365	0,405	0,400	0,410	0,400
4	0,585	0,580	0,600	0,585	0,590	0,600	0,595	0,610
5	0,770	0,750	0,750	0,760	0,780	0,770	0,790	0,800
6	0,990	0,985	1,010	1,030	1,010	1,025	1,030	1,060
7	1,285	1,270	1,305	1,290	1,295	1,315	1,300	1,320
8	1,450	1,460	1,475	1,410	1,500	1,570	1,530	1,550
9	1,630	1,655	1,660	1,670	1,670	1,705	1,695	1,700
10	1,780	1,770	1,800	1,790	1,810	1,910	1,870	1,880
11	1,890	1,890	1,910	1,900	1,995	2,020	2,-	2,010
12	1,995	1,990	2,010	2,-	2,050	2,040	2,030	2,040
13	2,010	2,-	2,010	2,010	2,055	2,040	2,035	2,045
alcool % in volume	2,6	2,5	2,6	2,6	2,8	2,7	2,8	2,8

Si osserva che nessuna evidente influenza esercitano i fosfati sull'attività fermentativa di *C. pulcherrima.*

Nel mosto d'uva il processo fermentativo non decorre in modo diverso. Avendo sperimentato con un mosto d'uva nera contenente il 24,5 % di zuccheri riduttori ed un'acidità totale del 9 ‰ i rendimenti alcoolici furono paragonabili a quelli registrati in acqua di lievito zuccherata. Se del caso si ebbe solo un più lento inizio della fermentazione.

II - Ricerche sull'attività fermentativa di C. pulcherrima in associazione con alte specie.

Candida pulcherrima dimostra quindi di non partecipare attivamente al processo fermentativo limitatamente, almeno, alla fase tumultuosa. D'altronde non si conoscono casi nei quali essa sia stata riscontrata sola o prevalente nei mosti naturalmente fermentanti come si verifica ad es. per specie del genere *Kloeckeraspora.*

Riscontrandosi peraltro associata ad altre specie si è voluto vedere, allora, quale influenza essa avrebbe potuto manifestare se unita, ad es., a *Sacch. ellipsoideus.* Noi abbiamo sempre insistito nel saggiare le rispettive influenze che si possono stabilire tra più specie agenti simultaneamente poichè se talvolta tali influenze non assumono alcun valore talaltra possono essere notevoli. A parte infatti i già rilevati fenomeni di antagonismo e di sinergesi, si cita l'antica osservazione di Castellani per cui specie non fermentanti possono determinare fermentazione di zuccheri se associate e la più recente e molto importante osservazione di Saenko (1) che ha notato come l'associazione (2) « ellittico-apiculato » determini tra l'altro una molto facile sporulazione negli apiculati e la perdita del potere di fermentazione del maltosio nell'ellittico.

Sperimentando dunque con lo stesso liquido costituito da acqua di lievito zuccherata si è effettuata qualche ricerca in questo senso; più esattamente sono stati effettuati saggi di fermentazione inoculando simultaneamente, ma in rapporti diversi, il ricordato liquido con colture in malto a parte sviluppate di *Sacch. ellipsoideus* oppure di *Kl. apiculata e Candida pulcherrima* (ceppo 69).

La prima esperienza come si rileva dalla Tab. VI e dal grafico allegato ha dimostrato che la simultanea presenza di *Sacch. ellipsoideus* e *Cand. pulcherrima* tende ad innalzare il complessivo rendimento del processo. Gli scarti avuti non sono tuttavia considerevoli.

---

(1) - Saenko - *Formazione di razze di Sacch. ellipsoideus e S. apiculatus* (in russo) - Microbiology, vol. 14, p. 299, 1945.

(2) - Taluno (Castelli) designa tale associazione con il termine di " simbiosi ". Tale termine ha, in realtà, un significato assai vasto; ma nel caso in questione il suo uso ci sembra biologicamente inesatto in quanto non si vede quali possono essere gli intimi reciproci rapporti che si stabiliscono tra le due specie e che, solo per essi, si potrebbe giustificare l'uso del ricordato termine.

TABELLA VI

Risultato della associazione *S. ellips.* - *C. pulch.* semiminati simultaneamente in liquido contenente il 21,4 % di zuccheri riduttori. Grammi di CO_2:

giorni:	ell. 100	ell. 75	ell. 50	pulch. 100	pulch. 50	ell. 100 pulch. 25	ell. 75 pulch. 25	ell. 50 pulch. 50
1	—	—	—	—	—	—	—	—
2	2,010	1,995	1,980	—	—	1,890	1,750	1,930
3	4,080	4,005	3,975	0,370	0,330	4,180	4,210	4,230
4	5,560	5,490	5,440	0,465	0,450	5,860	5,675	6,040
5	6,975	6,785	6,780	0,610	0,615	7,120	6,780	7,250
6	7,800	7,630	7,595	0,770	0,760	8,090	7,735	8,280
7	8,470	8,245	8,205	1,055	1,030	8,850	8,240	9,055
8	8,800	8,690	8,640	1,150	1,125	9,250	8,730	9,550
8	9,170	8,945	8,870	1,260	1,245	9,690	8,960	9,850

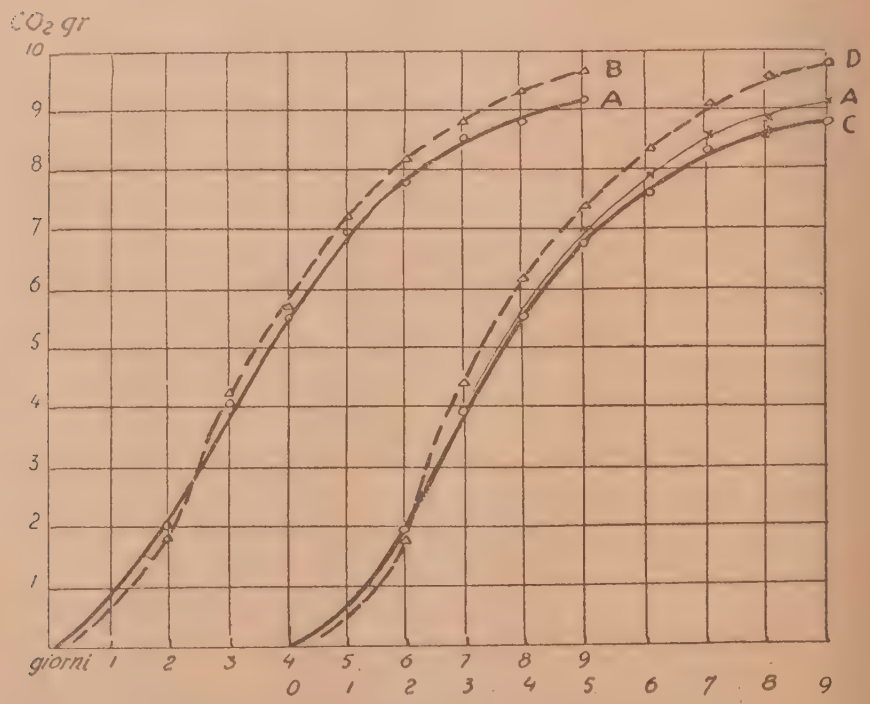

FIG. 1 - *Andamento del processo fermentativo nella associazione " Ellittico-Candida ".*
A = Ellittico 100 ; B = Ellittico 100 + Candida 25
C = Ellittico 50 ; D = Ellittico 50 + Candida 50

TABELLA VII

Risultato della associazione *Kl. apiculata - C. pulcherrima* (c. 69) seminati simultaneamente in liquido contenente il 20,8 % di zuccheri riduttori. Grammi di CO_2:

giorni:	apic. 100	apic. 50	apic. 100 Cand. 25	apic. 50 Cand. 50
1	—	—	—	—
2	0,750	0,715	0.890	0,905
3	1,350	1,310	1,660	1,665
4	1,780	1,730	2,400	2,410
5	2,180	2,145	2,955	3,145
6	2,720	2,665	3,305	3,475
7	3,—	2,940	3,610	3,765
8	3,230	3,160	3,755	4,025
9	3,420	3,370	3,895	4,225

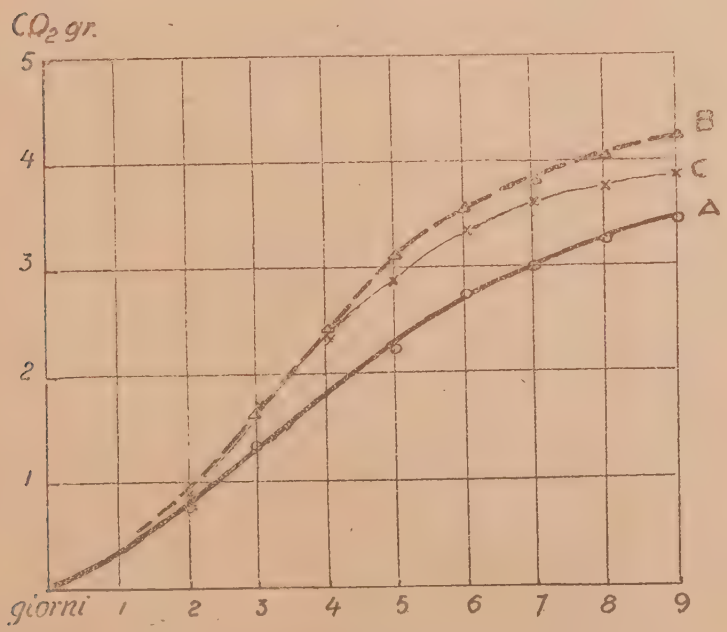

FIG. 2 - *Andamento del processo fermentativo nella associazione " Apiculato-Candida ".*
A = Apiculato 100; B = Apiculato 50 + Candida 50; C = Apiculato 100 + Candida 25

L'associazione « apiculato-pulcherrima », conforme quanto figura in Tabella VII e relativo grafico, ha dimostrato invece una più sensibile influenza.

Tanto, che ci è sembrato meritevole ottenerne conferma utilizzando — rispetto al solito ceppo di apiculato — altri due ceppi di *Candida;* questi ultimi risultati figurano in Tabella VIII.

TABELLA VIII

Risultato della associazione *Kl. apiculata - C. pulcherrima* (c. 26 e c. 25) seminati simultaneamente in liquido contenente il 20,6 % di zuccheri riduttori. Grammi di CO_2:

giorni:	apiculato 100	apiculato 50	apic. 100 / Cand. 26 : 25	apic. 50 / Cand. 26 : 50	apic. 100 / Cand. 65 : 25	apic. 50 / Cand. 65 : 50
1	—	—	—	—	—	—
2	0,450	0,415	0,460	0,440	0,435	0,425
3	1,050	1,040	1,065	1,020	1,036	1,020
4	1,875	1,860	1,880	1,860	1,860	1,850
5	2,160	2,138	2,162	2,155	2,140	2,130
6	2,605	2,587	2,600	2,635	2,580	2,570
7	3,005	2,985	2,995	3,060	2,980	2,970
8	3,240	3,195	3,225	3,295	3,220	3,205
9	3,455	3,412	3,430	3,490	3.430	3,425

Si scorge, osservando la produzione di anidride carbonica, che *C. pulcherrima* nei ceppi 26 e 65 non manifesta analoga azione al ceppo 69 risultando pressochè indifferenti di fronte a *Kl. apiculata.*

Queste indagini orientative sugli effetti delle associazioni ellittico-pulcherrima e apiculato-pulcherrima informano che, talvolta, quale risultato della associazione si può avere un qualche stimolo nello svolgimento del processo fermentativo conforme almeno quanto indica la produzione di anidride carbonica; il ricordato stimolo è peraltro non rilevante ed incostante apparendo legato alla natura e all'origine dei ceppi.

III - RICERCHE SULLA RESISTENZA OFFERTA DA C. PULCHERRIMA DI FRONTE ALL'ALCOOL ETILICO ED ALCUNI ACIDI.

Attesa la scarsa o assente partecipazione di *C. pulcherrima* alla prima fase del processo fermentativo — se non altro in rapporto alle ricerche eseguite — poteva apparire inutile qualsiasi altra indagine circa il comportamento

del lievito in parola nei mezzi fermentescibili. Non abbiamo tuttavia elementi sufficienti per poter escludere un eventuale ulteriore intervento durante la fermentazione secondaria.

Quale allora potesse essere la resistenza dei vari ceppi di fronte all'alcool etilico ci è sembrato che potesse avere interesse. Con l'occasione si è saggiata anche la resistenza offerta di fronte all'acido tartarico e all'ac. lattico. Tale resistenza è stata valutata in base allo sviluppo determinatosi in seno al liquido di coltura (malto), in rapporto cioè alla torbidità ed al sedimento e, quindi, alla torbidità complessiva dopo avere rimosso il sedimento con ripetuta agitazione.

All'esame soggettivo (non disponendo di dispositivi nefelometrici) risultò:

TABELLA IX

Sviluppo di alcuni ceppi di *C. pulcherrima* in malto addizionato di alcool etilico, o acido tartarico o acido lattico.

		ceppo 65-T-13	ceppo 69-T-13	ceppo 26-T-13	ceppo *Asp.*
alcool etilico % in volume	8	+	+	+	+
	10	+	+	+	—
	12	+	+	+	—
	14	+	+	+	—
ac. lattico ‰	2	+	+	+	(±) lento e scarso
	3	+	+	+	(±)
	4	+	+	(±)	—
ac. tartarico ‰	5	+	+	+	+
	6	+	+	+	(±)
	7	+	+	+	(±)
	8	+	+	+	—

I ceppi 65-69-26 hanno dimostrato, nel complesso, un analogo comportamento ed una resistenza, di fronte all'alcool etilico e agli acidi, paragonabile a quella offerta dal lievito ellittico. Diverso è stato invece il comportamento del ceppo " *Asp.* ". Questo si è dimostrato poco resistente all'alcool e, ancor meno, agli acidi. Tale diverso comportamento meriterebbe, anzi, un più approfondito esame.

CONCLUSIONI

1) *Candida pulcherrima* (LINDNER) WIND. è un lievito che, conforme ormai numerosi rilievi, si rinviene frequentemente nei mosti in fermentazione.

2) Esso presenta una debole attività alcooligena se pure variabile da ceppo a ceppo.

3) Debole è anche la produzione di acidità volatile sempre inferiore a quella prodotta dal lievito ellittico ed apiculato.

4) La ricordata debole attività alcooligena non aumenta per una maggiore presenza di fosfati nel mezzo, nè qualora il mezzo venga neutralizzato o tamponato.

5) Consociata con il lievito ellittico, *C. pulcherrima* tende ad innalzare il complessivo rendimento del processo avendosi peraltro scarti non considerevoli; consociata con l'apiculato non ha dimostrato di esercitare sensibile nè costante influenza.

6) La maggior parte dei ceppi tollera bene la presenza dell'alcool etilico e di alcuni acidi nelle quantità che normalmente si hanno nei fermentati; solo un ceppo si è dimostrato molto scarsamente tollerante.

7) Nel complesso non appare che *C. pulcherrima* partecipi attivamente al processo di fermentazione vinaria, almeno durante la fase tumultuosa. Un suo eventuale ulteriore intervento non può essere escluso, ma in questo senso rimane ancora da indagare.

Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica
della Università di Pisa
e detto della Università di Firenze

(Presentata il 19 Febbraio 1949).